

05.7.2004

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年 7月 4日
Date of Application:

REC'D 26 AUG 2004

出願番号 特願2003-271085
Application Number:

1003

[ST. 10/C]: [JP2003-271085]

PCT

出願人 株式会社クボタ
Applicant(s):

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 8月 12日

特許長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川

洋

【書類名】 特許願
【整理番号】 T103060100
【提出日】 平成15年 7月 4日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 G01N 33/53
 C12M 1/00

【発明者】
【住所又は居所】 茨城県龍ヶ崎市向陽台五丁目 6番 株式会社クボタ 環境エンジニアリング事業本部バイオセンター内
【氏名】 倉根 隆一郎

【発明者】
【住所又は居所】 兵庫県尼崎市浜 1丁目 1番 1号 株式会社クボタ内
【氏名】 鳥山 明夫

【発明者】
【住所又は居所】 茨城県龍ヶ崎市向陽台五丁目 6番 株式会社クボタ 環境エンジニアリング事業本部バイオセンター内
【氏名】 江崎 聰

【発明者】
【住所又は居所】 茨城県龍ヶ崎市向陽台五丁目 6番 株式会社クボタ 環境エンジニアリング事業本部バイオセンター内
【氏名】 白岩 由紀

【特許出願人】
【識別番号】 000001052
【住所又は居所】 大阪府大阪市浪速区敷津東一丁目 2番 4 7号
【氏名又は名称】 株式会社クボタ

【代理人】
【識別番号】 100107308
【住所又は居所】 大阪府大阪市北区豊崎 5丁目 8番 1号
【弁理士】
【氏名又は名称】 北村 修一郎
【電話番号】 06-6374-1221
【ファクシミリ番号】 06-6375-1620

【選任した代理人】
【識別番号】 100114959
【住所又は居所】 大阪府大阪市北区豊崎 5丁目 8番 1号
【弁理士】
【氏名又は名称】 山▲崎▼ 徹也
【電話番号】 06-6374-1221
【ファクシミリ番号】 06-6375-1620

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 049700
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1

【書類名】特許請求の範囲**【請求項 1】**

互いに当接させる第1部材と第2部材との間に生体関連分子を担持する反応領域を備えた生体関連分子マイクロアレイであって、

前記第1部材および前記第2部材の少なくとも何れか一方がポリジメチルシロキサンで構成してあり、

前記ポリジメチルシロキサンの基材中に気体分子を侵入させてある生体関連分子マイクロアレイ。

【請求項 2】

前記気体分子が水分子である請求項1に記載の生体関連分子マイクロアレイ。

【請求項 3】

前記ポリジメチルシロキサンで構成された部材の表面にコーティングを施してある請求項1または2に記載の生体関連分子マイクロアレイ。

【請求項 4】

前記コーティングがガス不透過性ポリマーである請求項3に記載の生体関連分子マイクロアレイ。

【請求項 5】

前記ポリジメチルシロキサンで構成された部材表面が、親水性処理されている請求項1から4の何れか一項に記載の生体関連分子マイクロアレイ。

【請求項 6】

互いに当接させる第1部材および第2部材の少なくとも何れか一方をポリジメチルシロキサンで構成し、前記第1部材と前記第2部材との間に形成した反応領域に生体関連分子を担持する生体関連分子マイクロアレイの製造方法であって、

前記ポリジメチルシロキサンで構成した部材を真空条件下に維持する工程と、

当該真空雰囲気に所定の気体を供給して、前記ポリジメチルシロキサンの基材中に前記気体の分子を侵入させる工程とを有する生体関連分子マイクロアレイの製造方法。

【請求項 7】

前記気体が水蒸気である請求項6に記載の生体関連分子マイクロアレイの製造方法。

【書類名】明細書

【発明の名称】生体関連分子マイクロアレイおよびその製造方法

【技術分野】

【0001】

本発明は、生体関連分子マイクロアレイに関し、特に、ポリジメチルシロキサンを構成部材として備え、反応領域の気密性を向上させた生体関連分子マイクロアレイ、および、該マイクロアレイの製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、マイクロアレイ技術は、多種類の遺伝子を網羅的に解析することができるとして、包括的な遺伝子発現モニタリング、ゲノムの変異、多型性を検出する上で、ポストゲノム時代の重要な基盤技術として、環境事業分野、医療分野から基礎生物学の分野まで注目されている。特に、ここ数年来、DNAマイクロアレイ技術は、飛躍的な技術的進歩を遂げている。DNAマイクロアレイ(DNAチップ)とは、ミクロな技術を使って、ガラス等の基板上に高密度に整列固定化された遺伝子DNAに対して、蛍光分子等で標識した標的核酸をハイブリダイゼーションさせ、基板上に結合した標識を蛍光スキャナー等で画像化し、解析処理するというものである。

【0003】

そして、現在、ヒトゲノムプロジェクトの終了に伴うポストゲノム時代への移行により、その研究対象が、DNAからタンパク質に移行しつつあり、プロテオーム解析に関心が集まっている。そして、そのアナロジーとして、プロテインチップが脚光を浴びている。タンパク質の情報はDNAによりコードされているため、DNAマイクロアレイ解析で事足りる場合が多いとはいえ、細胞内情報伝達の根幹をなすリン酸化、分子認識や細胞間相互作用に重要な役割を果たす糖鎖付加等の、タンパク質の翻訳後修飾や、分泌により組織や細胞から解離したタンパク質の動態解析などは、DNAの塩基配列やmRNA量からだけでは予測できないことから、タンパク質を一度に大量解析するためのプロテインチップの開発、実用化が切望されている。

【0004】

ポリジメチルシロキサン(polydimethylsiloxane、以下、PDMSと略する。)は、シリコンエラストマーの一種である。透明性が極めて高く、光学的特性に優れており、広い波長領域での吸収が小さく、特に、可視光領域での吸収が極めて小さく、蛍光検出にもほとんど影響しないという特性を有し、また、鋳型に対する追従性が高く、ナノからミクロンオーダーでの微細加工が容易であることから各種光学的機器に最適な形に成形できる等、任意の微細構造に成形しやすいという特性を有している。更に、鋳型法を用いることにより安価に微細構造物を構築することができるとして、ナノ・バイオ融合テクノロジーの分野において注目されている。また、PDMSはそれ自体、ガラス、アクリル樹脂などと密着性がよい性質を有しており、微細加工を施されたPDMS部材に平坦なガラス、アクリル樹脂部材を当接させることにより、流路や、チャンバーを形成することが可能である。

【0005】

このようなPDMSの性質を利用し、ナノテクノロジーとバイオテクノロジーを融合させることにより、PDMSにより形成されたマイクロチップに微細加工を施し、当該マイクロチップ上にキャピラリーチャンネルを形成したキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップが報告されている(例えば、特許文献1参照。)。また、PDMS基材に微細加工を施して、バーコード状に並列配置された反応空間を有するマイクロアレイの検討が行われている。

【0006】

しかしながら、PDMSの主成分はジメチルシロキサンであるが、これだけでは重合は起こらず、側鎖にビニル基、アルコキシ基等を持つシロキサン化合物が入ることによって所々で架橋が起こり、網目構造を形成する。このため、一般的に気体透過性が高く、チャ

ンバーを構成する部材としてPDMSを用いた場合、チャンバー内部の水分の蒸発という問題があった。DNAチップ、プロテインチップは、微量試料を対象とするため、水分の蒸発が反応系に与える影響が大きく、また、試料を担持させたままの長期保存には適さないという問題点があった。特に、DNAチップでは、ハイブリダイゼーション等高温で反応を行う段階での水分蒸発は大きな問題である。また、プロテインチップを構築する場合には、タンパク質の構造、活性が湿潤な条件下でしか、維持することが出来ないため、特に、水分の蒸発が与える影響は大きい。

【0007】

また、PDMSは疎水性であるため、色素が沈着しにくいため、酵素標識等による可視光検出に適用することができず、レーザー光検出を行う必要がある。しかしながら、レーザー光検出は感度もよく優れた方法ではあるが、検出のための機器が高価であることが起因して検出にかかるコストが高かった。

【特許文献1】特開第2001-157855号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

そこで、本発明は、上記したようなPDMSマイクロチップに係る実状に鑑みてなされたものであり、反応領域の気密性が向上された高精度の検出が可能な、かつ、DNAチップならびにプロテインチップとしても利用可能なマイクロアレイおよびその製造方法を提供し、引いては、可視光検出にも適用可能なマイクロアレイを提供することにより、更なる、低コスト化を実現することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは光学的特性および微細加工材料として優れた特性を有するPDMSのマイクロアレイ用基板としての好適な利用に関して鋭意研究した結果、真空条件下で気体と接触させてPDMS基材の網目構造間隙に気体分子を侵入させることにより、大気圧下においてもその基板内部に気体分子を保持でき、PDMS基材自体の気体透過性を改質できることを見出し、かかる知見を基礎として本発明を完成するに至った。

【0010】

すなわち、本発明に係るマイクロアレイは、互いに当接させる第1部材と第2部材との間に生体関連分子を担持する反応領域を備えた生体関連分子マイクロアレイであって、前記第1部材および前記第2部材の少なくとも何れか一方がポリジメチルシロキサンで構成してあり、前記ポリジメチルシロキサンの基材中に気体分子を侵入させてあることを特徴とする。

【0011】

特に、前記気体分子が水分子であることが好ましい。

【0012】

また、前記ポリジメチルシロキサンで構成された部材の表面にコーティングを施してあることが、好ましく、前記コーティングがガス不透過性ポリマーであることが、好ましく、特に、好ましくは、ポリパラキシレン系樹脂等のガス不透過性ポリマーが例示される。

【0013】

また、前記ポリジメチルシロキサンで構成された部材表面が、親水性処理されていることが好ましい。

【0014】

本発明に係るマイクロアレイの製造方法は、互いに当接させる第1部材および第2部材の少なくとも何れか一方をポリジメチルシロキサンで構成し、前記第1部材と前記第2部材との間に形成した反応領域に生体関連分子を担持する生体関連分子マイクロアレイの製造方法であって、前記ポリジメチルシロキサンで構成した部材を真空条件下に維持する工程と、当該真空雰囲気に所定の気体を供給して、前記ポリジメチルシロキサンの基材中に前記気体の分子を侵入させる工程とを有することを特徴とする。

【0015】

特に、前記気体が水蒸気であることが好ましい。

【0016】

ここで、本明細書中の「生体関連分子マイクロアレイ」という用語は、生体関連分子が担持される、もしくは、実際に担持されたマイクロアレイを意味し、実際に担持されていないものも含む概念である。「生体関連分子」という用語は、被検対象物を認識し得るプローブ分子、つまり、互いに親和性を有する物質の一方を選択的に検出し得る分子認識能を有するものを意味し、反応領域を形成する部材表面に固相化される。したがって、基板表面に固相化されて互いに親和性を有する物質の一方を選択的に検出し得る分子認識能を有する限り、何れの物質をも含む概念であり、cDNA、PCR産物等のDNA断片、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、ペプチド核酸等の核酸、タンパク質、ペプチド、糖、細胞、微生物等、が好ましく例示されるが、これらに限定されるものではない。生体関連分子は、市販品を利用することができ、細胞、組織等から適当な抽出、精製手段を用いて得られたものを、また、人工的に合成されたものを利用することもできる。生体関連分子として核酸を用いる場合には、公知の方法を用いて細胞もしくは組織より抽出されたDNA、RNAを利用することができ、更には、鎖状若しくは環状のプラスミドDNAや染色体DNA、これらを制限酵素により若しくは化学的に切断したDNA断片、試験管内で酵素等により合成されたDNA、又は化学合成したオリゴヌクレオチド等を用いることもできる。また、タンパク質、ペプチドの場合は、細胞若しくは組織等から抽出、精製されたタンパク質、タンパク質をプロテアーゼ等により酵素的若しくは化学的に切断したペプチド断片、組み換え遺伝子技術を用いて合成されたタンパク質等を用いることができる。ここで、物質識別能とは、互いに親和性を有する物質を選択的に識別しえることを意味し、例えば、DNA-DNA、DNA-RNA、RNA-RNAの塩基間でのハイブリダイゼーション（相補的結合）能、抗体、抗体フラグメント-抗原間、または、調節因子、受容体-ホルモン、サイトカイン、神経伝達物質、レクチン等間、または、酵素-基質、補酵素等間の応答能が、好ましく例示される。したがって、本発明のマイクロアレイは、DNAチップ、プロテインチップ、糖鎖チップ、ウイルスチップ、微生物チップ、細胞チップ等として、構成することが可能であり、核酸の配列情報の決定、遺伝子の発現や変異、多様性などの解析、および目的タンパク質の精製、同定、タンパク質の発現、相互作用、翻訳後修飾等の機能解析に好ましく、利用可能である。

【0017】

また、標的物質は、生体関連分子によって捕獲される物質、つまり、部材に担持された生体関連分子と、先に示したような選択的に識別可能な親和性を有して相互作用する物質である。例えば、cDNA、PCR産物等のDNA断片、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、ペプチド核酸等の核酸、タンパク質、ペプチド、糖、細胞、微生物等、が好ましく例示されるが、これらに限定されるものではない。

【0018】

マイクロアレイに供せられる被検試料は、環境もしくは生体中に存在する標的物質の存在が疑われる試料の何れをも含む概念である。土壤、水等の環境試料、生体試料、食品試料等を例示することができ、これらは、好ましくは、適当な前処理が施される。例えば、標的物質が核酸の場合は、上記試料から微生物、動物もしくは、植物の細胞もしくは組織を抽出、精製もしくは単離し、得られた細胞もしくは組織から適当な手段により核酸試料を調製することが好ましい。細胞、組織からの調製は、通常の核酸の調製方法に基づいて行われる。mRNAの場合は、標識dNTPの存在下での逆転写反応により、標識cDNAとすることが好ましく、また、原核細胞では、トータルRNAを抽出することが、また、遺伝子の変異や多型を調べる際には、標識プライマー、若しくは標識dNTPの存在下で標的領域をPCRにより増幅しておくことが好ましい。更に、基板上のDNA断片がオリゴヌクレオチドである場合には、標的核酸は低分子化されていることが好ましい。

【発明を実施するための最良の形態】

【0019】

以下に、本発明のマイクロアレイの実施の形態を詳細に説明する。しかしながら、本発明は、これに限定されるものではなく、適当な改変形態が本発明に含まれることが理解できよう。

【0020】

本発明のマイクロアレイは、互いに当接させる第1部材と第2部材との間に生体関連分子を担持する反応領域を備えた生体関連分子マイクロアレイであって、前記第1部材および前記第2部材の少なくとも一方がPDMSで構成してあり、前記PDMS基材中に気体分子を侵入させてある。基材の網目構造の隙間に気体分子を侵入させることにより、網目構造間間に気体分子が充填、保持されて、PDMS基材自体の有する気体透過性を改質させることができる。

【0021】

互いに当接させる第1部材と第2部材との間に生体関連分子を担持する反応領域を備えた生体関連分子マイクロアレイとは、第1部材と第2部材とを互いに当接することにより、第1部材と第2部材の間に空間が形成されるべく構成されるものであり、その空間にプローブ分子として生体関連分子が担持されるマイクロアレイを意味するものである。そして、該空間は反応領域として機能するものである。ここで、反応領域とは、例えば、生体関連分子が担持される領域、つまり、生体関連分子の固相化領域として、基板に固相化される生体関連分子、試料、反応溶液の注入、キャピラリー現象によるこれらの拡散のための流路として、ハイブリダイゼーション、抗体抗原応答反応等の実施領域、また、生体関連分子等を固相化した状態で保存する際にはチャンバーとしての役割を有するべく構成されるものである。第1部材と第2部材は、プローブ分子をスポットする基盤とカバーブレートとして、また、微細加工を施されたプローブのスポット部を形成する構造体として、構成されることが、好ましく例示される。

【0022】

第1部材、第2部材の、少なくとも一方はPDMSで構成される。つまり、第1部材、第2部材の一方がPDMSで構成される限り、他方の部材を構成する基材には制限はなく、公知の何れの基材により構成されてもよいことを意味する。したがって、双方の部材をPDMSで構成してもよく、また、他方の部材をPDMS以外の基材で構成してもよい。他方の部材をPDMS以外の基材で構成する場合には、ガラス、アクリル樹脂等のPDMSとの密着性の高い部材が好ましく例示される。

【0023】

前記PDMSの基材中に気体分子を侵入させてあるとは、PDMS基材の網目構造の隙間に気体分子が保持されることを意味し、つまり、侵入した気体分子の基材内部から放出が抑制され、PDMS基材の網目構造隙間が気体分子により充填されることを指す。このように構成することにより、PDMS基材自体の気体遮断性が向上し、PDMSによって一部または全部が囲まれる反応領域となる空間の気密性を向上させることができが可能となる。したがって、反応領域内部からの水分の蒸発を防止することができ、良好な反応環境、保存環境を提供することができ、水分の蒸発によるハイブリダイゼーション等の反応系への影響を軽減できる。特に、第1部材、第2部材を構成する基材が、PDMS-PDMS、ガラス、アクリル樹脂等のPDMSとの密着性の高い基材として構成された場合には、これらの部材同士の密着性の高さとも相俟って、反応領域からの水分の蒸発を最小限に抑制できる。

【0024】

気体分子としては、PDMS基材の網目構造中には、ほとんどの気体を保持することができるため、生体関連分子と標的物質の選択的応答反応に影響を与えない限り、いずれの気体を使用することができるが、取り扱いの簡便さの面から、好ましくは、窒素、アルゴン等の不活性ガス分子、水分子が例示され、特に、好ましくは、水分子である。

【0025】

更に、PDMS基材をコーティング処理することが可能である。コーティング処理は、PDMS基材内部に貯留された気体分子をPDMS基材から散逸することを防止するた

めに行われるものである。これにより、PDMS基材の気体遮断性が更に高められ、PDMS基材により一部もしくは全部が囲まれて形成される反応空間の気密性が更に高められる。コーティング処理に用いられるコーティング剤は、反応領域に担持される生体関連分子の活性に影響を与えない限り、公知の何れのコーティング剤をも使用することができる。また、コーティングを施す時期に關しても特に制限はなく、気体分子を侵入させた後、また、気体分子を侵入させる前、何れの時期においても行うことができる。気体分子をPDMS基材に侵入された後にコーティング処理を施す場合には、一部コーティング処理を施さない部位を形成する、もしくは、基材全体をコーティング処理した後に基材内部に気体が侵入できるように任意の部位に穴を形成する等、の処理を行うことにより、これら未コーティングの部位から気体を基板内に侵入させることができることが好適に利用できる。

【0026】

また、上記処理されたPDMS基材により構成される部材は、好ましくは、親水性処理される。親水性処理は、公知の親水性表面処理方法が何れをも好ましく使用することにより行われるが、特に、好ましくは、O₂プラズマ処理（例えば、Macromolecules 26, 5870 (1993) 等を参照。）、紫外線／オゾン処理（例えば、Journal of colloid and Interface Science 254, 306-315 (2000) 等を参照。）等により親水性表面処理される。これにより、疎水性であったPDMS基材表面が親水性となり、ポリL-リシン等のアミノ基やカルボキシル基に富んだ各種機能性高分子をコーティングすることが可能となる。さらにこのアミノ基やカルボキシル基にDNA、タンパク質等生体関連分子を結合させることができる。また各種の色素を効率よく沈着することができ、例えば、酵素標識した標的DNAなどを用いた上で酵素の基質を反応させて、色素を発生させ、可視光で目的遺伝子の検出が可能となる。また、親水処理を施す時期に關しても特に制限はなく、気体分子を侵入させた後、また、気体分子を侵入させる前、何れの時期においても行うことができる。

【0027】

次に、本発明のマイクロアレイの製造方法について説明する。本発明のマイクロアレイの製造方法は、PDMSで構成した部材を真空条件下に維持する工程（以下、「真空維持工程」と略する。）と、真空雰囲気に所定の気体を供給して、PDMS基材内部に前記気体の分子を侵入させる（以下、「気体侵入工程」と略する。）と、を有する。真空雰囲気下で、所定の気体を供給することにより、網目構造の表面孔から気体分子が、基材の内部全域に渡り均一に侵入し、大気圧下に戻された際にも、気体分子の基材内部からの放出が抑制され、基材内部に気体分子が保持され得る、つまり、PDMS基材の網目構造間隙が気体分子により充填された状態に保たれる。

【0028】

真空維持工程は、PDMSで構成した部材を密閉空間に収容し、該密閉空間を真空引きすることにより、真空条件下に維持する。密閉空間の真空引きは、密閉空間の上面側、下面側、又は、側面側の何れか、または、これらの複数の面の組み合わせからの真空引きにより、行ってもよい。ここで、真空条件とは大気圧より低い圧力の気体で満たされた空間内の状態を意味し、真空度は、特に制限はなく、気体分子侵入工程において供給される気体の種類、部材の大きさ等を勘案しながら、適宜決定される。

【0029】

気体分子侵入工程は、真空雰囲気が確立された密閉空間内に、所定の気体を供給して、PDMS基材の網目構造内に気体分子を侵入させ、保持させるものである。供給される気体は、特に制限はないが、取り扱いの簡便さおよび安全性の面から、好ましくは、水蒸気、窒素ガスまたはアルゴン等の不活性ガスであり、特に好ましくは、水蒸気である。気体分子の供給は、密閉空間の上面側、下面側、又は、側面側の何れか、または、これらの複数の面の組み合わせからの供給により、行ってもよい。また、供給される気体の温度、圧力等、また、気体との曝露時間等に關しても、特に制限はなく、真空維持工程により形成される真空度、部材の大きさ等を勘案して、適宜決定される。

【0030】

真空維持工程と気体分子侵入工程を行うタイミングは、特には制限なく、P D M S により構成される部材が、真空雰囲気下で気体分子と接触させることができれば、気体分子の供給を開始した後に、該密閉空間の真空引きを停止してもよいし、また、気体分子の供給と、該密閉空間の真空引きを並列的に行うように構成してもよい。また、これらの処理は、第1部材と第2部材を当接する前に予め行った後、2つの部材を当接させてもよく、また、第1部材と第2部材を当接させた後に行なってもよい。

【0031】

気体侵入工程において水蒸気を供給する場合に用いられる水蒸気は、好ましくは、飽和水蒸気若しくは、飽和水蒸気に更に熱を加えて100℃以上の高温に熱した加熱水蒸気であり、また、水蒸気の温度、圧力、曝露時間等は、特に限定されないが、なるべく多くの水蒸気をジメチルシロキサンの網目構造中に保持させるために、高温であることが好ましく、具体的には、50℃以上で処理することが好ましいが、これに限定するものではない。

【0032】

真空維持工程、気体分子侵入工程の後、該密閉空間内を外部に開放して大気圧下にもどす。気体侵入工程終了後、即、大気を密閉空間内に導入して大気圧下に戻してもよく、また、終了後、しばらく放置した後、導入してもよく、適宜、設定される。

【0033】

次に、本発明を実施するための装置の一例について説明する。P D M S で構成された部材を収納する密閉性の反応槽と、前記反応槽に、反応槽内の内圧を調節する内圧調節手段と、反応槽内に気体を供給する気体供給手段と、反応槽内部の圧力を検出する圧力センサー等を設けた構成とすることができる。更に、各部の作動を制御する制御手段を設けることも可能である。内圧調節手段は、反応槽内の空気を排気して前記反応槽内部を真空雰囲気とする真空ポンプと、反応槽内に空気を送気する送気ポンプまたは外気に反応槽内の雰囲気を開放するバルブを有するものとして構成することができ、また、気体供給手段としては、供給する気体が水蒸気である場合には、熱水を入れた容器、バーナによる浄水の加熱、蒸気式ボイラー等として構成することができる。

【実施例】

【0034】

(実施例1)

P D M S 基材をアルカリ洗浄済のスライドガラスに貼り付け、P D M S 基材とスライドガラスの間には、2つの部材によって包囲された試料を担持できる反応領域となる空間（本実施例では、チャンバーとして構成）が形成された実験チップを作製した。作製した実験チップを水蒸気で満たした真空雰囲気が形成されたデシケーター内に20分間静置した。

【0035】

次に、前記空間と外部を連通する試料供給用の小孔から前記実験チップに形成された空間内に、シリジンポンプを用いて流速4μl/分にて0.025%プロモフェノールブルー水溶液を8μl注入した後、60℃のヒートブロック上で加熱し、加熱後、0、10分、30分後に、実験チップの写真撮影を行い、実験チップの該チャンバー内に残留するプロモフェノールブルー/蒸留水の量の変化を観察した。結果を図1に示す。実験チップの該チャンバー内に残留するプロモフェノールブルー/蒸留水の量の変化により、前記チャンバーの気密性、つまり、前記チャンバー内からの水分の蒸発について分析するものである。また、所定時間経過後にチャンバー内に残存しているプロモフェノールブルー水溶液の量を測量し、注入量(8μl)を100%とした残存量の割合を算出し、表1にまとめた。

【0036】

(実施例2)

真空下での水蒸気処理に先立って予め、チップ表面にラップを貼り付けたことを除いて、実施例1と同様に実験チップを作製し、実施例1と同様に処理してチャンバー内からの

水分の蒸発について分析した。結果を図1および表1に示す。

【0037】

(比較例1)

真空下での水蒸気処理を行わず、そのまま、60℃のヒートブロック上においていたことを除いて実施例1と同様に実験チップを作製し、実施例1と同様に処理してチャンバー内からの水分の蒸発について分析した。結果を図1および表1に示す。

【0038】

【表1】

チップ調整方法	加熱開始からの経過時間		
	0分	10分	30分
比較例1	100	80	50
実施例1	100	95	80
実施例2	100	100	100

数値は一定時間経過後
残っている水の割合(%)

【0039】

図1および、上記表1の結果から明らかなように、真空条件下で水蒸気処理を行った実験チップのチャンバー内の水は、未処理のものに比べて明らかに保持されることが判明した(実施例1と比較例1の比較。)。したがって、真空条件下での水蒸気処理によりPDMS基材自体の気体遮断性の向上することでPDMS基材で形成されたチャンバー内の気密性が向上し、チャンバー内部からの水の蒸発を防止できることが理解できる。また、PDMS基材表面にコーティングを施すことにより、その効果が更に向上することが判明した(実施例1と実施例2の比較。)。

(発明の効果)

【0040】

本発明の生物関連分子マイクロアレイによれば、反応領域となる微細チャンバー内の水分の保持が可能となることから、高精度かつ、再現性高い検出が可能となり、長期保存が可能となる。つまり、溶液の状態として長期間保存することができるようになり、DNAだけでなく、タンパク質などの生体成分を自由にチップ化することが可能となり、その応用範囲は広範に渡る。特に、取り扱いの難しいタンパク質の活性、構造維持が可能となることから、プロテインチップとしての使用が期待され、プロテオーム技術の発展に大きく貢献するものである。

【0041】

PDMS基材表面を親水処理することにより、可視光での検出が可能となることから、安価なLEDランプ、CCDカメラでの検出が可能となり、低コスト化を図ることができる。

【0042】

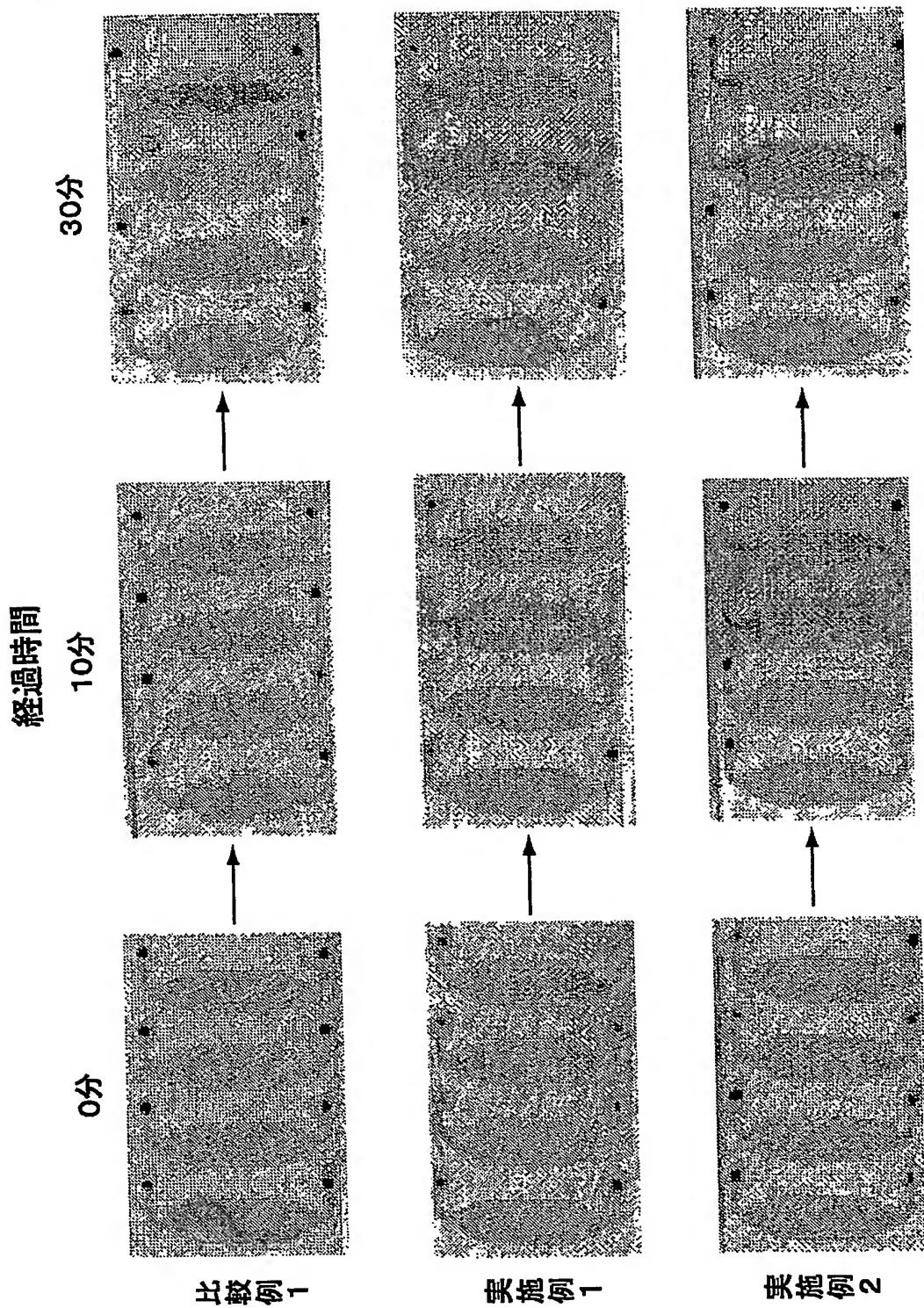
以上のように優れた特性を有する本発明のマイクロアレイは、環境分野、食品、医療分野での実用化が期待でき、バイオ機器の技術発展に貢献するものである。

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図1】実施例1、実施例2、および比較例1で作製された実験チップの水分保持性を比較した実験結果を示す図。

【書類名】図面
【図1】



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】要約書

【要約】

【課題】 本発明は、反応領域の気密性を向上された高精度の検出が可能な、かつ、プロテインチップとしても利用可能なマイクロアレイおよびその製造方法を提供し、引いては、可視光検出にも適用化可能なマイクロアレイを提供することにより、更なる、低コスト化を実現することを目的とする。

【解決手段】 本発明者らは光学的および微細加工材料として優れた特性を有するP D M Sのマイクロアレイ用基板としての好適な利用に関して鋭意研究した結果、真空条件下で気体と接触させてP D M S基材の網目構造間隙に気体分子を侵入させることにより、大気圧下においてもその基板内部に気体分子を保持でき、P D M S基材自体の気体遮断性を改質できることを見出し、かかる知見を基礎として本発明を完成するに至った。

【選択図】 図1

特願 2003-271085

出願人履歴情報

識別番号 [000001052]

1. 変更年月日 2001年10月11日

[変更理由] 住所変更

住所 大阪府大阪市浪速区敷津東一丁目2番47号

氏名 株式会社クボタ